

⑬ 日本国特許庁 (JP)

① 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57—208457

⑤ Int. Cl.³
G 01 N 33/48
1/28

識別記号

庁内整理番号
6422—2G
6430—2G

④ 公開 昭和57年(1982)12月21日

発明の数 2
審査請求 未請求

(全 7 頁)

⑭ 自動染色装置

① 特 願 昭56—94140
② 出 願 昭56(1981)6月18日
⑦ 発 明 者 井沢正雄
八王子市中野町2540

⑧ 発 明 者 立川幸子
八王子市並木町24—16吟風荘
⑨ 出 願 人 オリンパス光学工業株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番
2号
⑩ 代 理 人 弁理士 奈良武

明 細 書

1. 発明の名称

自動染色装置

2. 特許請求の範囲

- (1) 細胞あるいは組織の染色に必要な各工程を所定の順序に従って自動的に遂行する自動染色装置において、染色用容器本体の壁面に指標体を備えた染色用容器とこの染色用容器の指標体の染色濃度を測定する濃度測定手段とから成る染色濃度制御部を設けることにより構成したことを特徴とする自動染色装置。
- (2) 細胞あるいは組織の染色に必要な各工程を所定の順序に従って自動的に遂行する自動染色装置において、染色用容器本体の壁面に指標体を備えた染色用容器とこの染色用容器の指標体の染色濃度を測定する濃度測定手段とこの濃度測定手段における所定の染色濃度の検出信号を介して、上記染色用容器内における細胞あるいは組織の染色を停止する染色停止手段とから成る染色濃度制御部を設けること

により構成したことを特徴とする自動染色装置。

- (3) 上記染色用容器本体が培養細胞等の培養容器であることを特徴とする特許請求の範囲が1項または2項記載の自動染色装置。
- (4) 上記指標体が培養細胞等の染色剤に感受性を備える塩化ビニル系あるいは酢酸ビニル系の台成樹脂、または上記培養細胞等に対応する細胞質様の台成蛋白質を均一に塗布あるいは固着した高分子膜、紙片、その他のシートであることを特徴とする特許請求の範囲が1項または2項記載の自動染色装置。
- (5) 上記染色用容器を細胞あるいは組織の染色に必要な各工程に従って移送する手段をベルトコンベアーにより構成したことを特徴とする特許請求の範囲が1項または2項記載の自動染色装置。
- (6) 上記染色用容器を細胞あるいは組織の染色に必要な各工程に従って移送する手段を、上記染色用容器を上下動自在に懸吊する支持手段

とこの支持手段を、上記染色の各工程に従つて配列された各処理手段の配列方向に移送する移送手段とから構成したことを特徴とする特許請求の範囲が1項または2項記載の自動染色装置。

(7)上記染色停止手段を染色用容器内に注入した染色液を排水する手段によつて構成したことを特徴とする特許請求の範囲が2項記載の自動染色装置。

(8)上記染色停止手段を、染色処理槽内に浸漬した染色用容器を同染色処理槽外へ取り出す手段によつて構成したことを特徴とする特許請求の範囲が2項記載の自動染色装置。

3. 発明の詳細な説明

本発明は培養細胞あるいは生体組織の染色装置に関し、細胞あるいは組織の染色作業を簡単な操作で、均一な染色濃度が得られる自動染色装置の提供を目的とするものである。

従来、顕微鏡等により培養細胞あるいは生体組織を観察する際には、その表面や内部が見易いよ

うに、あるいは細胞の中にある物質や、細胞部位が特異的に反応して染色され、特徴的に観察することができるよう染色するのが大きな目的であった。

従つて、所謂、見えるために「染まればよい」わけであり、多少の濃淡は見易いか、見難いかという事以外に問題とならなかつた。

しかし、染色した標本を一つの指標として細胞の増殖や、細胞内部の特定の物質の増減等を追跡せんとする場合に、標本の染色濃度は均一である方が判定し易いし、特に光電的に染色濃度を計測して、細胞の増殖数等のデータを客観化する場合には、染色ムラやロットムラがあつたのでは、標本・試料から得ようとする細胞の増殖数等のデータを正確に得ることができない。

因て、大量の標本の染色性の均一化が要求されるとともに染色のための複雑な作業の簡易化並びに自動化が切望された。

かゝる要望に答えて、自動染色装置が開発され、例えば、現在標本を固定するスライドガラスを染

色籠にセットした後、この染色籠を懸吊支持部に支持せしめるとともに標本を染色固定するために要求される各処理工程、例えば図1図のブロック図にて示す如く順次配置された緩衝液、固定液、I染色液、の各液槽中に、上記染色籠を浸漬しつつ処理し、さらにこれを水洗した後、通風等の乾燥手段により乾燥することにより染色籠にセットした各スライドガラスに標本を染色固定する自動染色装置が提供されている。

しかるに、従来の自動染色装置は細胞あるいは組織の染色に必要な各工程は、例えば上記染色籠を懸吊支持した懸吊支持部をチェーンコンベア等の移送手段により各処理槽および水洗、乾燥工程の各方向へ移送する移送操作とともに懸吊支持部の上下動操作をそれぞれ予め定められた各工程に要求されるタイムスケジュールに従つて実施するものであるために、特に、染色の制御がタイマーによる制御であると、染色液の濃度や、いたみおよび各染色標本のロット相互間における染色ムラが生じやすく、また、処理濃度、染色液の状態、細胞

あるいは組織の状態、さらには染色に先立つ、前処理の状態等の各ファクターによる染色濃度への影響をコントロールする場合に、上記装置における染色時間を上記各ファクターに対応せしめて変更する必要が生じ、実際に当該コントロールを適確に実施することは困難で、作業性にも乏しいものである。

そこで、本発明は、上記従来の自動染色装置において、実際に染色せんとする細胞あるいは組織の指標体を染色用容器本体に備えた染色用容器を使用するとともにこの指標体の染色濃度を測定する手段を介して、染色用容器内の細胞あるいは組織の経時的な染色状態を把握するとともに当該測定手段における染色濃度が所定値に達した時点で染色を停止する手段を介して、即ち、染色濃度を介して染色処理を制御することのできる染色濃度制御部を設けることによつて、上記従来の自動染色装置の欠点を解消せんとするものである。

以下に、本発明自動染色装置の実施例を図面とともに説明する。

先ず、染色用容器としての細胞の生育するシャーレ20を矢印I方向に搬送するベルトコンベアー21を設置するとともに、このベルトコンベアー21に沿つて1~10の各処理装置を配列かつ架設する。

また、シャーレ20の壁面に指標体22を設け、染色容器としての機能を整えるのであるが、この指標体22としては、染色せんとする細胞あるいは組織に対応せしめた指標体を選択しつつ実装するが、例えば、才6工程目の染色処理に使用する染色剤に染色される性質を備える塩化ビニル系あるいは酢酸ビニル系のプラスチックや、細胞質様の台成蛋白質を均一に塗布した、あるいは固着した高分子膜や紙片等により形成した指標体を使用する。

尚、図中、1~10の各処理装置において、1a、3a、5a、70a、9aは処理液の吸引ポンプ、2a、4a、6a、8aは処理液の注入ポンプ、1b、3b、5b、70b、9bは上記吸引ポンプ、1a、3a、5a、70a、9aによ

つてシャーレ20内より吸引した処理液を廃液するため連結した廃液ビン、2b、4b、6b、8bは注入ポンプ2a、4a、6a、8aを介してシャーレ20内に注入する処理液を充填した処理液充填用ビンを示し、7の染色濃度制御部は、上記シャーレ20の指標体22の染色濃度を測定する手段としての発光ダイオード等からなる発光素子11とこれに対向して配置した受光素子12とから成る検出部13およびこれの検出信号を増巾等の処理をする信号処理回路部14、検出信号との比較回路部16、さらに所定の染色濃度の検出信号により、吸引ポンプ7aを作動させて、シャーレ20内の染色液を吸引することにより、染色を停止する手段としての吸引ポンプ7aの制御部15とから構成してある。

さらに、乾燥装置10はヒーター17およびファン18より構成してある。

しかして、以上の構成から成る本発明の自動染色装置によつて、シャーレ20に培養された細胞を染色固定する場合について説明すると、シャー

レ20を移送手段としてのベルトコンベアー21上に載置せしめて矢印I方向に移送する工程中、まず、廃液吸引装置1にて、シャーレ20内の古い培地を吸引ポンプ1aにより廃液ビン1b中に排水し、次に緩衝液注入装置2の注入ポンプ2aによりシャーレ20内に緩衝液を注入して処理するとともに次段の廃液吸引装置3において、上記緩衝液をシャーレ20内より吸引ポンプ3aを介して廃液ビン3b内に排水し、さらに固定液注入装置4により、充填用ビン4b中の固定液をシャーレ20内に注入した後、次段の固定液吸引装置5のシャーレ20の固定液を廃液ビン5b内に排水する。

その後、染色液注入装置6にて、染色液を注入ポンプ6aの作動によりシャーレ20内に必要量注入し、染色を行なう。

かかる染色工程において、染色濃度制御部7にて、シャーレ20内に注入した染色液による細胞の染色濃度を制御する。

即ち、染色液注入装置6を経たシャーレ20は

次段の染色濃度制御部7に至り、上記した染色用容器としてのシャーレ20の壁面に固定した指標体22に対して検出部13の発光素子11と受光素子12をセットするとともに染色液吸引装置70をセットする。

そして、シャーレ20内の細胞が染色液によつて染色されるのに伴い、指標体22の染色も進行し、この指標体22の染色濃度は、染色濃度測定手段としての発光素子11からの光の透過量を受光素子12にて検出しつつ測定するとともにこの受光素子12による検出信号を信号処理回路部14にて電気信号に増幅変換処理し、かつ同回路部14の比較回路部16にかけると所定の染色濃度との比較を行なう。

その後、指標体22の染色が進行し、所定の濃度を上記検出部13にて検出されその検出信号が比較回路部16に予めセットした所定の染色濃度レベルに達したことを確認した時点にて、出力信号を制御部15にて送出し、染色液の吸引ポンプ70aを作動させて、シャーレ20内の染色液を

吸引し、細胞の染色を停止する。

このように、染色濃度制御部7にて染色濃度をコントロールしつつ所定の染色を完了したシャーレ20をベルトコンベア21にて次順の水洗水注入装置8に移送し、注入ポンプ8aより水洗水を注入することによつて、余分な染色液を洗い流しさらに次順の脱液吸引装置9の吸引ポンプ9aにより水洗水を吸引除去した後、乾燥装置10に移送し、シャーレ20を温風によつて乾燥することにより、シャーレ20内の細胞の染色固定作業を完了することができる。

尚、上記染色処理作業の工程は染色せんとする細胞あるいは組織に対応した処理装置をその工程順序に従つて配列するとともに各処理装置における処理時間が移送手段たるベルトコンベア21との間に設定され、かつ各処理装置1～10はシャーレ20の移動に支障をきたすことがないようにベルトコンベア21に対して上下あるいは前後動自在に架設し、各処理装置1～10における処理操作に側送せしめて作動させつつ実施する。

22にセプトすることができるよう構成し、上記実施例における染色濃度制御部7と同一の構成部により、同様の染色濃度のコントロールを実施することができるよう構成した方3図示の自動染色装置に設計変更しての実施が可能である。

この方3図示の自動染色装置の場合には、方4図a、bの染色プログラム等に従つた処理液槽およびその他の処理部が要求されるとともに各処理液槽およびその他の処理部における必要な処理作業工程に側送せしめて、上記染色槽35を移送手段および上下動手段を介して操作する。

また、染色濃度制御部7による指標体22の染色濃度の検出およびレベル判別は上記実施例と同様であるが、その染色濃度が設定レベルに達した時点における染色停止手段は、制御部15からの出力信号により、上記染色槽35を懸吊支持する支持部に設置した上下動操作部37（例えばテューンプロッタ）を作動せしめて、染色液槽32より染色槽35を引き上げることにより遂行する。

尚方3図中、30は緩衝液槽、31は固定液槽、

また、各処理装置は、例えば、方4図a、bに示す細胞あるいは組織の染色プログラム等に対応せしめて構成するとともにベルトコンベアによる移送と各処理装置における操作並びに時間等を染色プログラムの各工程に対応せしめて構成するものである。

さらに、方2図示の実施例における、各処理液の注入、吸引を各処理装置1～9にて遂行する実施例を、各処理工程に必要な処理液槽30～33および乾燥装置34を順次配列するとともに上記実施例における指標体22を設けた染色用容器としてのシャーレ20を染色槽35内に内蔵し、この染色槽35を上記各処理液槽30～33および乾燥装置34の配列方向に移送手段、例えばテューンコンベア36に対して懸吊支持し、かつ染色槽35を上下動自在に支持しテューンプロッタあるいは伸縮自在な支持腕等によつて支持し、さらに染色液槽32に対しては方2図示の検出部13を上下動かつ前後動自在に架設し、染色液槽32中に浸漬した染色槽35の染色用容器20の指標体

33は水洗槽を示す。

染色槽35の懸吊、移送手段は、従来公知の自動染色装置における懸吊腕とこの腕の上下および回転操作により構成するとともに上記各処理液槽およびその他の処理部を懸吊腕の回転範囲内に配列し、かつ染色液槽に対して染色濃度制御部を準備することにより、本発明の自動染色装置を構成することができる等、方2、3図示の実施例に限定されるものではない。

以上の説明から明らかを通り、本発明の自動染色装置によれば染色中に染色濃度制御部によつて染色せんとする細胞あるいは組織の指標体の染色濃度を検出しつつ細胞あるいは組織の染色濃度を制御することができるので、染色液の状態、細胞あるいは組織等の被染色試料の状態、濃度、その他の染色条件あるいは外部要因の影響を受けるとなく、常時一定の染色濃度を得ることができ、従来の自動染色装置における染色ムラ、ロットムラを解消するとともに染色濃度からのゲートについて正副かつ均一性を得ることができる。

4. 図面の簡単な説明

オ1図は従来の自動染色装置における染色工程を示すブロック図、オ2図は本発明装置の各要素を工程順に示した構成図、オ3図はオ2図とは別の実施例を示す構成図、オ4図a、bは細胞および病理組織の染色プログラムを示すブロック図で、オ4図aはババニコラウ染色法の一例、オ4図bはヘマトキシリン、エオジン染色法の一例をそれぞれ示すものである。

1…廃液吸引装置

1a…吸引ポンプ

1b…廃液ビン

2…緩衝液注入装置

2a…注入ポンプ

2b…処理液充填用ビン

3…廃液吸引装置

3a…吸引ポンプ

3b…廃液ビン

4…固定液注入装置

4a…注入ポンプ

4b…処理液充填用ビン

5…固定液吸引装置

5a…吸引ポンプ

5b…廃液ビン

6…染色液注入装置

6a…注入ポンプ

6b…染色液充填用ビン

7…染色濃度制御部

70…染色液吸引装置

70a…吸引ポンプ

70b…廃液ビン

8…水洗水注入装置

8a…注入ポンプ

8b…水洗水充填用ビン

9…廃液吸引装置

9a…吸引ポンプ

9b…廃液ビン

10…乾燥装置

11…発光素子

12…受光素子

13…検出部

14…信号処理回路部

15…制御部

16…比較回路部

17…ヒーター

18…ファン

20…シャーレ

21…ベルトコンベア

22…推輦体

30…緩衝液槽

31…固定液槽

32…染色液槽

33…水洗槽

34…乾燥室

35…染色籠

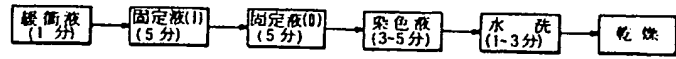
36…チェーンコンベア

37…上下動操作部。

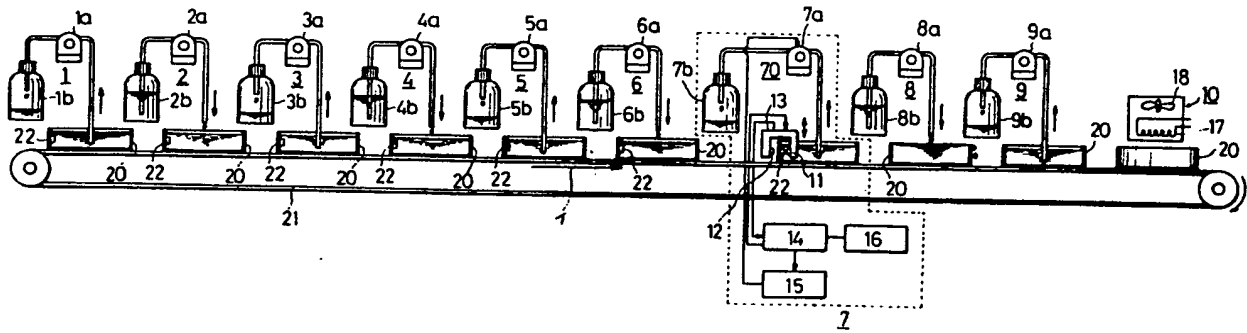
特許出願人 オリンパス光学工業株式会社

代理人 弁理士 森 良 武

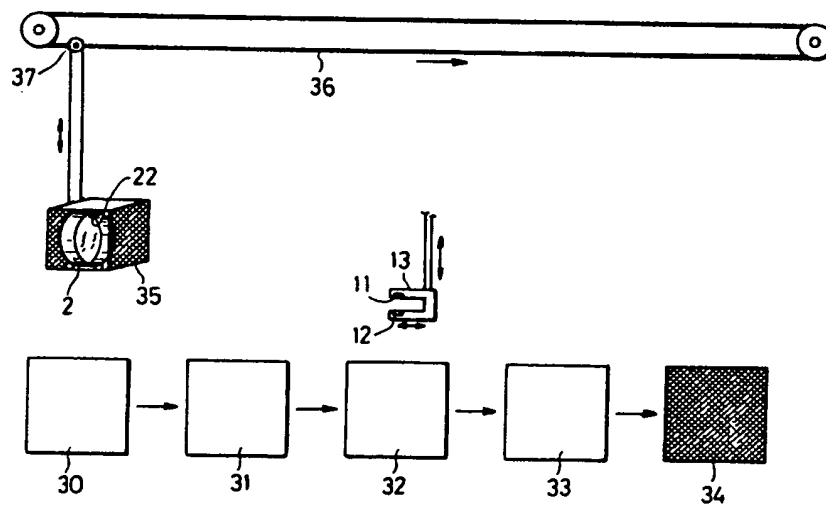
第 1 図

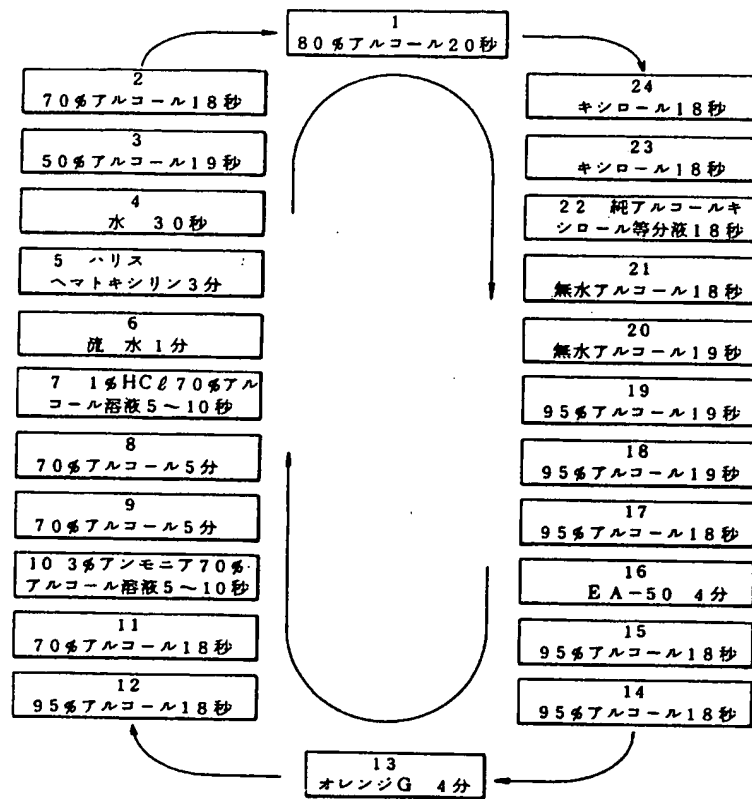
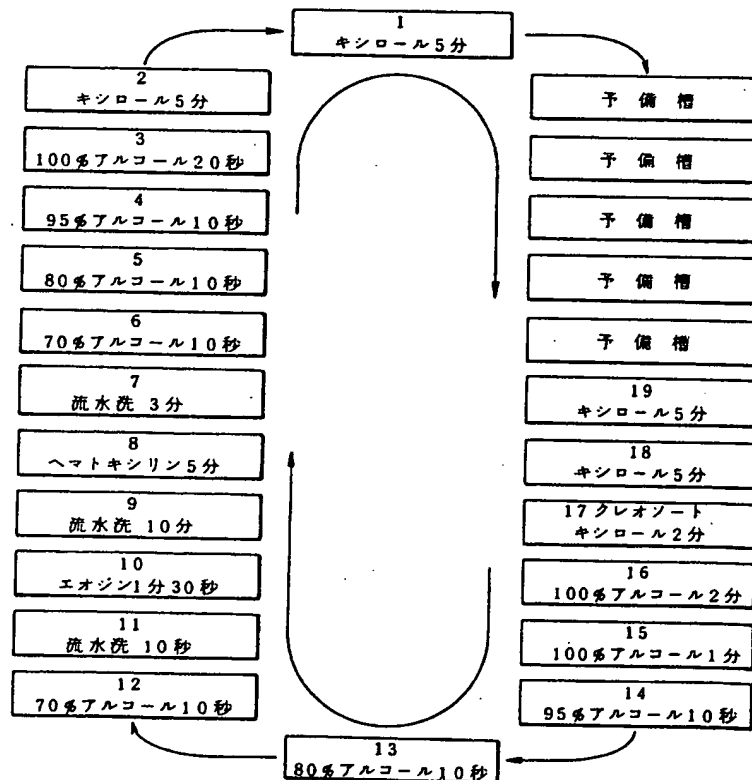


第 2 図



第 3 図



第4図
(a)第4図
(b)

THIS PAGE BLANK (USPTO)